

学位授与番号	医博甲第1328号
学位授与年月日	平成10年7月31日
氏名	池田大助
学位論文題目	Effect of isoleucine on toxin production by <i>Clostridium difficile</i> in a defined medium
論文審査委員	主査 教授 橋本 琢磨 副査 教授 福田 龍二 教授 山本 博 教授 吉本 谷博

内容の要旨及び審査の結果の要旨

Clostridium difficile (*C. difficile*) は偽膜性大腸炎や、一部の抗生物質関連下痢症の原因菌であり、トキシンAおよびトキシンBが主病原因子である。本菌は利用可能な糖がほとんど存在しない大腸で増殖し、毒素を産生するにもかかわらず、糖非存在下における毒素産生についてはほとんど研究されていない。そこで、本研究ではこれらの毒素の産生機構の解明を目指し、糖非存在下における毒素産生に及ぼすアミノ酸の影響について検討した。基礎培地には11種類のアミノ酸を含むグルコース不含合成培地を、菌株には強毒素産生株である*C. difficile* VPI10463株を用いた。トキシンAは酵素結合抗体免疫アッセイ法にて、トキシンBは培養細胞を用いたマイクロタイター法にて測定した。また、アミノ酸濃度はアミノ酸自動分析装置にて解析した。研究成果は下のように要約される。

(1)ヒスチジン、メチオニン、バリン、イソロイシン、プロリン、ロイシンを100mMに増量した時、基礎培地に比べ、トキシンAは6.9倍以上、トキシンBは32倍以上に増加した。特にイソロイシンに最も著しい毒素産生増強効果(トキシンA 1700ng/ml, トキシンB 2^{12} CU/50 μ l)が認められたので、イソロイシンについて更に詳細に検討した。(2)毒素産生はイソロイシン濃度を20mM以上に増量した時著しく増加し、100mMで最高値に達した。一方、菌の増殖はイソロイシン濃度の増加により抑制された。(3)イソロイシン濃度が100mMの時、1mMの時と比べ、イソロイシンの消費量は著しく増加したが、他のアミノ酸の消費量は概ね減少した。また基礎培地に含まれていないアラニン、シスタチオニンが検出された。(4)イソロイシン濃度が100mMの時、毒素は対数増殖後期より検出され始め、恒常期から衰退期に著しく多量に産生された。(5)毒素産生時期に一致して、イソロイシン、ロイシン、システインが消費され、アラニンおよびシスタチオニンが産生された。

以上の結果は、糖非存在下における*C. difficile*の毒素産生にイソロイシンが重要な役割を果たしていることを示している。またアラニンおよびシスタチオニンの産生が毒素産生と同様の機序により抑制されている可能性を示唆している。

以上、本研究は*C. difficile*の毒素産生機構の解明に新知見を付与するものであり、感染症学、細菌毒素学に寄与する労作と評価された。